

MODIFITSEERITUD DIPEPTIIDI SÜNTEES ORGANOKATALÜÜSIS

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Allan Raudsepp

Juhendaja: Harry Martõnov, Keemia ja biotehnoloogia instituut, doktorant-nooremteadur

Õppekava: Rakenduskeemia ja geenitehnoloogia



SYNTHESIS OF MODIFIED DIPEPTID FOR ORGANOCATALYSIS

Bachelor's thesis

Student: Allan Raudsepp

Supervisor: Harry Martõnov, Department of Chemistry and Biotechnology, PhD student/junior
researcher

Study programme: Applied Chemistry and Gene Technology

Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Allan Raudsepp

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab bakalaureusetööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Harry Martõnov

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Maksim Ošeka

[allkiri ja kuupäev]

Sisukord

Sisukord	4
Lühendid.....	5
Sissejuhatus.....	6
1. Kirjanduse ülevaade	7
1.1 Asümmeetriline organokatalüüs	7
1.1.1 Enamiini katalüüs	7
1.1.2 Brønstedi happed asümmeetrilises organokatalüüsis	8
1.1.4 Vesiniksideme katalüüs	8
1.2 Halogeenside	9
1.3 Oligopeptiidid ja nende rakendus asümmeetrilises organokatalüüsis	12
1.4 Peptiidsüntees tahkel kandjal	13
2. Töö eesmärk.....	16
3. Tulemused ja arutelu.....	17
3.1 Aminohappe lisamine tahkekandjale	17
3.2 Teise aminohappe lisamine tahkekandjale	19
3.3 Dipeptiidile XB-doonori lisamine ja katalüsaatori eemaldamine tahkekandjalt.....	20
4. Eksperimentaalne osa	22
4.1 Fmoc-L-Val lisamine tahkele kandjale ja Fmoc-i eemaldamine	22
4.2 Fmoc- Phe lisamine ja Fmoc-i eemaldamine.....	22
4.3 XB-doonori lisamine ja dipeptiidi mahavõtmine tahkekandjalt.....	23
Kokkuvõte.....	24
Abstract	25
Tänuavaldus	26
Kasutatud materjalid.....	27
Lisad.....	30
Lisa 1. Val ¹ H TMR spekter.....	30
Lisa 2. Phe-Val ¹ H TMR spekter	31
Lisa 3. XB-Phe-Val ¹ H TMR spekter.....	32
Lisa 4. XB-Phe-Val ¹³ C TMR spekter.....	33
Lisa 5. XB-Phe-Val ¹⁹ F TMR spekter	34

Lühendid

A⁻ – konjugeeritud alus
Asn – asparagiin
Asp – aspartaat
Boc – tert-butüüloksükarbonüül
2-Cl-Trt – 2-klorotritüül
DCM – diklorometaan
DMF – dimetüülformamiid
E - elektrofiil
ee – enantiomeerne liig
EtOAc – etüülatsetaat
EtOH – etanool
Fmoc – fluorenüülmetoksükarbonüül
F₄IBA – 2,3,4,5-tetrafluoro-6-jodobensoehape
HA – hape
HATU – Heksafluorofosfaatasabensotriasooltetrametüüluroonium
HB – vesiniksida
HE⁺ – elektrofiili konjugeeritud hape
HMPB – 4-(4-hüdroksümetüül-3-metoksüfenoksü)võihape
ⁱPr₂EtN – *N,N*-diisopropüületüülamiin
ⁱPrOH – isopropanool
IUPAC – Rahvusvaheline Puhta ja Rakenduskeemia Liit
MeOH – metanool
mol% – moolprotsent
NMM – *N*-metüülmorfoliin
Nu – nukleofiil
OAt – 3H-[1,2,3]triasoolo[4,5-*b*]püridiin-3-olaat
PE – petrooleeter
Ph – fenüül
Phe – fenüülalaniin
Pro – proliin
R – orgaaniline funktsionaalne rühm
TFA – trifluoroäädikhape
Val – valiin
ÕKK – õhukese kihi kromatograafia
X – halogeenaatom
XB – halogeensida

Sissejuhatus

Tänapäeval on organokatalüüs üks edukamaid uurimisvaldkondi kaasaegses orgaanilises sünteesis ning ravimite avastamise ja arendamise üks võtmetehnoloogiaid.^{1,2} Sünteetiliste kiraalsete molekulide laialdane kasutamine enantiomeerselt puhaste ravimitena, elektroonilistes ja optilistes seadmetes, uudsete omadustega polümeeride komponentidena ja bioloogilise funktsiooni sondidena on muutnud asümmeetrilise katalüüsi oluliseks uurimisvaldkonnaks.³ Organokatalüüsis saab eristada protsesse, mis hõlmavad kovalentse sideme moodustumist ning protsesse, mis põhinevad mittekovalentsetel interaktsioonidel.⁴

Lisaks eelnevalt mainitud mittekovalentsetele interaktsioonidele on organokatalüüsis võetud kasutusele ka halogeenside. Alates sellest, kui Bruckmanni teadusgrupp avastas halogeensideme doonori katalüütilise aktiivsuse, on avatud üks organokatalüüsi uue valdkonna arendamiseks ja sellest ajast alates on üha rohkem publikatsioone käsitlenud halogeensideme doonori katalüütilisi rakendusi.⁵ Eelkõige on halogeensidemeid kasutatud imiinide aktiveerimiseks Mannichi ja asa-Diels-Alderi reaktsioonides, haloalkaanide aktiveerimiseks halogeeni abstraktsioonireaktsioonides ja karbonüülühendite aktiveerimiseks Dielsi-Alderi, Michaeli ja Nazarovi reaktsioonides.⁶

Peptiidid on looduses laialt levinud molekulid ja neil on mitmeid bioloogilisi toimeid, nagu antimikroobne, antitrombootiline, opioidne ja antioksidantne toime.⁷ Peptiidid on biopolümeerid, mis koosnevad aminohappejääkidest ja neid ühendab peptiidside.⁸ Peptiidipõhised katalüsaatorid on kujunenud katalüütiliste reaktsioonide mitmekülgseks platvormiks. Mõned varasemad panused andsid võimaluse uurida biomimeetilisi ideid, kuna minimaalseid peptiide võib vaadelda keerulisemate, looduslikult esinevate ensüümide väikese molekulmassiga imiteerijatena. Viimasel ajal on peptiidipõhised katalüsaatorid muutunud üha populaarseks platvormiks enantioselektiivsete katalüütiliste reaktsioonide uurimiseks.⁹

Bruce Merrifieldi poolt kasutusele võetud peptiidsünteesi tahkekandjal (solid phase peptiide synthesis, SPPS), on dramaatiliselt muutnud peptiidide sünteesi strateegiat. Seda kasutades lihtsustas ta lahusefaasi sünteesiga seotud tüütuid ja nõudlikke puhastamisetappe.¹⁰ Fmoc SPPS on tänapäeval domineeriv kasutusel olev meetod ning enamik sünteetilisi peptiide sünteesitakse selle abil.^{11,12}

Käesoleva bakalaureuse töö eesmärgiks oli sünteesida modifitseeritud dipeptiid katalüsaator, mis sisaldab halogeensideme-donoorset fragmenti.

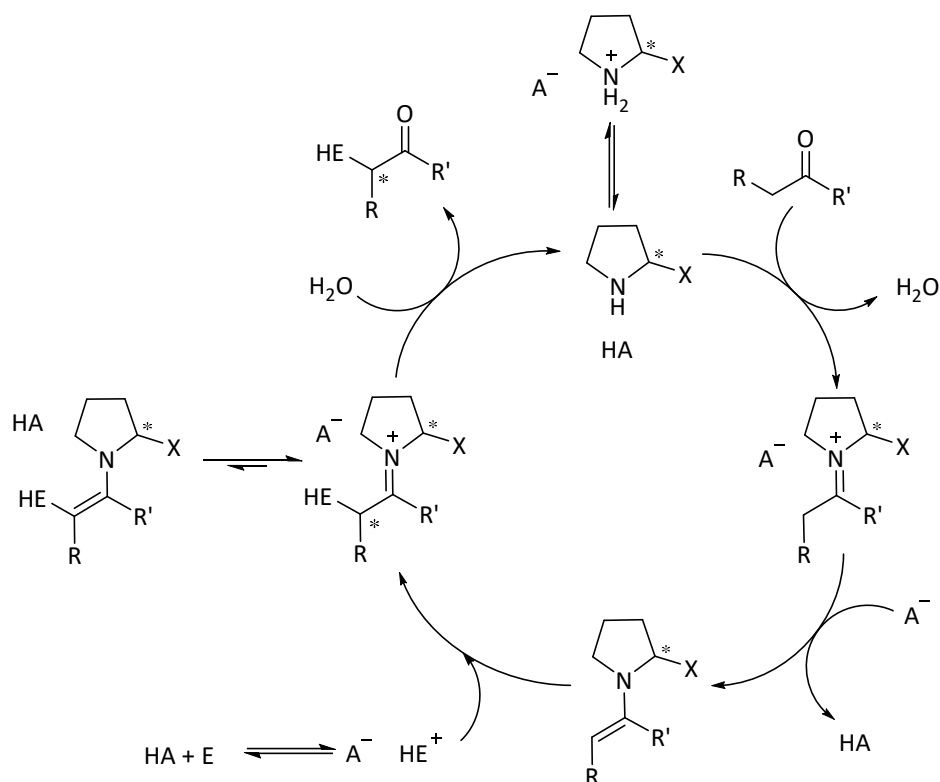
1. Kirjanduse ülevaade

1.1 Asümmeetriline organokatalüüs

Tänapäeval on organokatalüüs üks edukamaid uurimisvaldkondi kaasaegses orgaanilises sünteesis ja hõlmab mitmeid klassikalisi katalüütilisi meetodeid.¹ Hiljutised arengud asümmeetrilise katalüüsi vallas viitavad lisaks väljakujunenud ensüümidele ja metallikompleksidele ka kolmandale katalüsaatori klassile ehk organokatalüsaatoritele.² Asümmeetrilist orgaanilist sünteesi, kasutades katalüsaatoritena metallivabu madala molekulmassiga orgaanilisi ühendeid, kirjeldasid esmakordselt kaks tööstusuuringute rühma 1971. aastal. Nad kasutasid proliini kui katalüsaatorit triketooni intramolekulaarses aldoolreaktsioonis.¹³ Organokatalüütiliste meetoditega saab läbi viia erinevad asümmeetrilisi süsinik-süsinik ja süsinik-heteroaatom sideme moodustamise reaktsioone.¹³ Optimeeritud tingimustes ja looduslike või äsja välja töötatud kiraalsete katalüsaatorite kasutamisel annavad need reaktsioonid väga suure saagise ja peaaegu täieliku enantiomeerse puhtuse.¹³ Üldiselt saab organokatalüüsis eristada protsesse, mis hõlmavad kovalentsete sidemete moodustumist katalüsaatori ja substraadi(de) vahel katalüütilise tsükli jooksul, ja protsesse, mis põhinevad mittekovalentsetel interaktsioonidel, nagu näiteks vesiniksideme või ionipaaride moodustumine.⁴ Kovalentse katalüüsi korral moodustub organokatalüsaatori ja substraadi vahel kovalentne side, mis suurendab substraadi ja reagenti vastastikmõju reaktsioonis. Substraadi ja katalüsaatori vahelise mittekovalentse interaktsiooni korral toimub substraadi aktiveerimine vesiniksidemete või ionsete interaktsioonide kaudu.¹⁴

1.1.1 Enamiini katalüüs

Enamiini katalüüsist on saanud üks enim kasutatavaid organokatalüütilisi aktiveerimisviise. See võimaldab enoliseeritavate aldehüüdide ja ketoonide enantioselektiivset α -funktsionaliseerimist koos erinevate elektrofiilidega.¹⁵ Enamiini katalüüsis karbonüülühend reageerib algselt primaarse või sekundaarse amiiniga ning dehüdraatimise teel tekib vastav enamiin. Enamiini kõrgeim hõivatud molekulaarorbitaal (highest occupied molecular orbital, HOMO) on kõrgema energiaga kui karbonüülühendi HOMO ja seetõttu saab see hõlpsamini interakteeruda elektrofiili madalaima vaba molekulaarorbitaaliga (lowest unoccupied molecular orbital, LUMO) või üksiku hõivatud molekulaarorbitaaliga (single occupied molecular orbital, SOMO). Enamiini katalüüsi eeliseks on kõrge enantioselektiivsus, mida on võimalik saavutada kiraalsete amiinide kasutamisel katalüsaatoritena. Enamiini katalüüsi eeliseks on kõrge enantioselektiivsus, mida on võimalik saavutada kiraalsete amiinide kasutamisel katalüsaatoritena. Selles valdkonnas on enamus amiine välja töötatud ja organokatalüüsis edukalt kasutatud, andes termilistes ja fotokeemilistes reaktsiooni tingimustes enantiorikastatud funktsionaliseeritud karbonüülühendeid.¹⁶



Skeem 1. Kiraalse amiini katalüüsitud karbonüüli α -funktsionaliseerimise mehhanism¹⁵

1.1.2 Brønsted'i happed asümmeetrilises organokatalüüsis

Viimasel kümnendil on üha enam huvi äratanud mittekovalentse organokatalüüsi kasutamine elektrofiili aktiveerimiseks. See lähenemisviis tugineb tavaliselt Brønsted'i happekatalüsaatoritele, mis suurendavad elektrofiilsete molekulide reaktsioonivõimet, vähendades nende elektrontihedust elektrofiilses tsentris. Katalüütilise osakese, happelise vesinikuaatomi, äärmiselt väike ja labiilne iseloom muudab enantioselektiivse Brønsted'i happekatalüüsi ainulaadselt mitmekülgseks.¹⁷ Kiraalne Brønsted'i hape, nagu kiraalne fosforhape, on hiljuti arenenud oluliseks asümmeetrilise katalüüsi vahendiks.¹⁸ Kiraalsete fosforhapete poolt katalüüsitud asümmeetriliste reaktsioonide muljet avaldavat arvu saab osaliselt ratsionaliseerida fosforhapete bifunktsionaalse struktuuriga. Algselt toimides Brønsted'i happena, protoneerib katalüsaator ühe substraadi molekuli, suurendades selle elektrofiilsust. Prootonite ülekandega kaasneb katalüsaatori Lewis' aluselise omaduste suurenemine. See esile kerkiv aluselisuus on omakorda seotud protoonsete nukleofiilide aktiveerimisega. Sellise bifunktsionaalsuse tulemuseks on hästi organiseeritud üleminekuolekud ja kõrge stereoselektiivsus.¹⁷

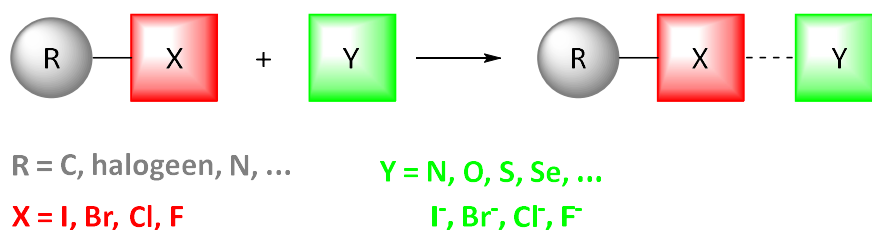
1.1.4 Vesiniksideme katalüüs

Kiraalsete vesiniksideme (HB) doonorkatalüsaatorite, nagu tiouuread ja skvaramiidid, abil teostatav organokatalüüs on viimasel aastatel kiiresti laienenud. Tänu sellele on võimalik sünteesida mitmeid

kõrge stereoselektiivsusega kiraalseid ühendeid. Seega võimaldatakse lihtsast lähtematerjalist keerukate molekulide kiire konstrueerimine, sageli kõrge funktsionaalrühma taluvusega.¹⁹ IUPAC määratles HB-d kui „atraktiivse interaktsiooni molekuli vesinikuaatomi või molekuli fragmendi X-H, milles X on elektronegatiivsem kui H, ja samas või erinevas molekulis oleva aatomi või aatomite rühma vahel, mille kohta on tõendeid sidemete tekke kohta”.²⁰ Kuna substraadi ja katalüsaatoriga kovalentseid vaheühendeid ei moodustu, siis erinevalt enamiini/imiiniumi organokatalüüsist ei ole reaktiivsete vaheühendite eraldamine sageli võimalik.¹⁹ Vesiniksideme katalüüsi võib määratleda kui LUMO-d alandavat aktiveerimisviisi, jagades vesinikuaatomit substraadi (vesiniksideme aktseptor) ja katalüsaatori (vesiniksideme doonor) vahel. Vesiniksideme doonori katalüüs toimib mitmesugustes keemilistes reaktsioonides, sealhulgas karbonüülide, imiinide ja epoksiidide aktiveerimisel nukleofiilse rünnaku suunas ning üleminekuolekute stabiliseerimisel Dielsi-Alder ja hetero-Dielsi-Alder tsükkelliitumistes, 1,3-dipolaarsetes tsükkelliitumistes, Claiseni ümberasetustes ja Michaeli reaktsioonides.¹⁵

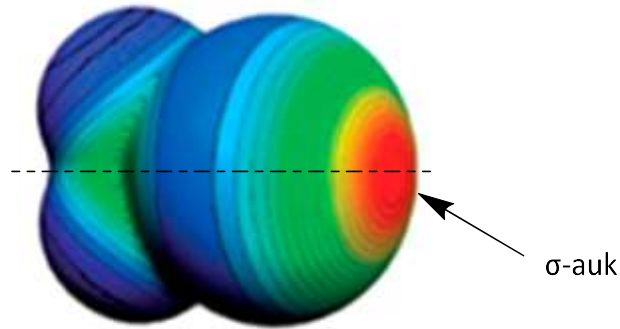
1.2 Halogeenside

2013. aastal defineeris IUPAC halogeen sidet järgnevalt – tüüpiline halogeenside (XB) on tähistatud kui R–X···Y, kus punktiirjoon tähistab XB (Joonis 1.). R–X tervikuna on XB doonor ja X on halogeeniaatom, mis on kovalentselt seotud R-rühmaga ja mille elektrostaatilisel potentsiaalsel pinnal on näha elektrofiilset piirkonda (Joonis 2. punane piirkond joodi aatomil). Võib juhtuda, et X on kovalentselt seotud rohkem kui ühe rühmaga, sellistel juhtudel võib halogeen moodustada ka rohkem kui ühe halogeensideme. Y on XB aktseptor ja võib olla anioon või neutraalne ühend, millel on vähemalt üks nukleofiilne piirkond, nt üksiku elektronpaari omav heteroaatom või π-süsteem²¹



Joonis 1. Halogeensideme moodustumine²¹

Halogeensideme doonor sisaldab joodi, broomi ja mõnikord ka kloori, mis on tavaliselt seotud elektronakseptorse rühmaga. Kolm paari jagamata elektrone halogeeni aatomil X moodustavad selle keskpirkonna ümber negatiivse elektrostaatilise potentsiaaliga vöö (Joonis 2. sinine piirkond joodi aatomil), jättes positiivse "σ-augu" selle pinna välimisele osale, mis on tsentreeritud ümber R-X kujutatava telje (Joonis 2. punane piirkond joodi aatomil). See σ-auk võib soodsalt interakteeruda teiste molekulide negatiivsete saitidega, moodustades halogeensideme.²²

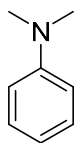


Joonis 2. CF_3I elektrostaatiline potentsiaal²¹

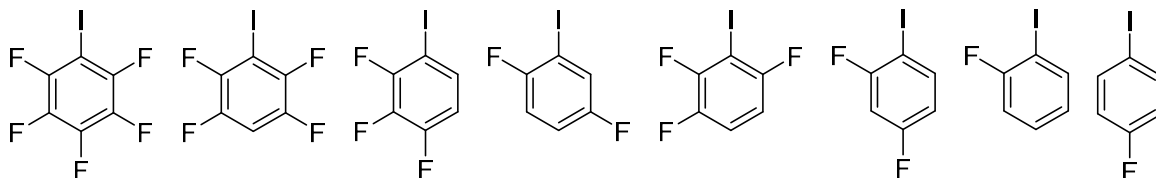
XB on rohkem sirgjoonelise orientatsiooniga interaktsioon, kui vesinikside. See eripära tuleneb σ -augu asukohast halogeeni aatomi pinnal. Nii teoreetilised kui ka eksperimentaalsed uuringud on näidanud, et monovalentse halogeeni aatomi korral on efektiivne aatomi raadius piki pikendatud R-X sideme telge (R = C, N, halogeeni aatom jne) on väiksem kui selle teljega risti. Mis puudutab interaktsiooni suunda XB aktseptori saidilt, siis on huvitav märkida, et kui interaktsioon hõlmab heteroaatomeid Y, millel on elektronpaarid, on XB eelistatavalt piki Y-I annetatud elektronpaari telge.²¹

Halogeeni σ -auk kipub muutuma suuremaks ja positiivsemaks halogeeni $Cl < Br < I$ suuruse kasvades. Väikseim halogeen, fluor, moodustab σ -augu ainult väga erilistel juhtudel, näiteks fluorimolekulis (F_2).²³ XB doonori võime sideme moodustamiseks kahaneb vastavas järjekorras $I > Br > Cl > F$. Seda järjestust saab seletada vastavate σ -aukude positiivse iseloomuga, mis suureneb halogeeni aatomi polariseeritavusega ja väheneb elektronegatiivsusega. Ühendi XB doonorivõimet saab hõlpsasti modifitseerida, valides doonorikohaks kõige mugavama halogeeni aatomi. Üsna suurt hulka interaktsioonienergiat saab hõlmata ühe aatomi muutusega XB doonoris, nimelt muutes joodiaatomi broomi- või klooriaatomiks. XB tugevust saab muuta ka mis tahes koostise või struktuurse modifikatsiooniga, mis mõjutab antud halogeeni aatomiga kovalentselt seotud aatomi(te) või fragmentide elektronaktseptorset võimet.²¹

XB akseptor



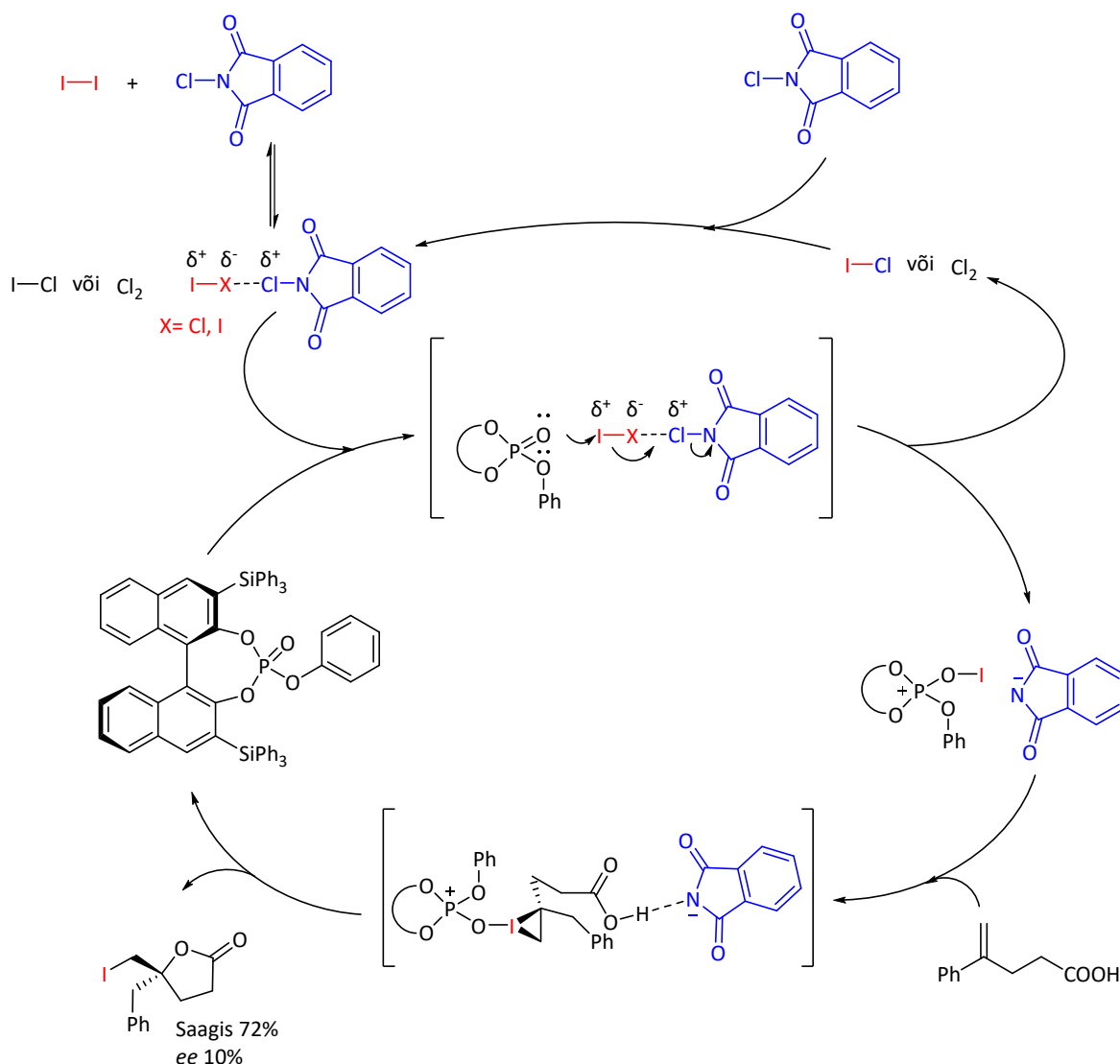
XB doonor



N---I kaugus

Skeem 2. Fluoriaatomite mõju halogeensideme pikkusele. Mida väiksem on kaugus N ja I vahel seda tugevam on halogeenside²¹

2008. aastal mõistsid Bruckmann ja teised, et XB-d saab kasutada ka katalüütilisel eesmärgil. See avas ukse organokatalüüsi uue valdkonna arendamiseks ja sellest ajast alates on üha rohkem publikatsioone käsitlenud XB-de katalüütilisi rakendusi.⁵ Orgaanilises sünteesis on Jood(III) derivaadid kasulikud reaktiivid, näiteks funktsionaalrühmade oksüdeerimiseks või elektrofiilsete asendajate ülekandmiseks.²⁴ Üks näide halogeensidemest orgaanilises sünteesis on enantioselektiivne jodolaktoniseerimise reaktsioon, kus aktiveeriti joodkloriidi ja N-kloroftalimiidi reagenti segu katalüütiliselt kiraalse fosforhappe derivaadiga, mis oli Lewise alusena antud reaktsioonis (skeem 3). Joodkloriidi kooperatiivses aktiveerimises osales kaks halogeensidemega seotud interaktsiooni. Viimase joodiaatom toimib halogeensideme doonorina fosforhappe derivaadi suhtes, samas kui selle klooriaatom toimib Lewise alusena halogeensideme doonori N-kloroftalimiidi suunas. See reaktsioon andis saagise 63% kuni 99% ja ee 2% kuni 94%. Organokatalüüsis on halogeensideme suurt sirgjoonelist orientatsiooni kasutatud ka substraatide ratsionaalseks orienteerimiseks ruumis, et järgnev reaktsioon oleks võimalik või vähemalt hõlbustatud.²⁵



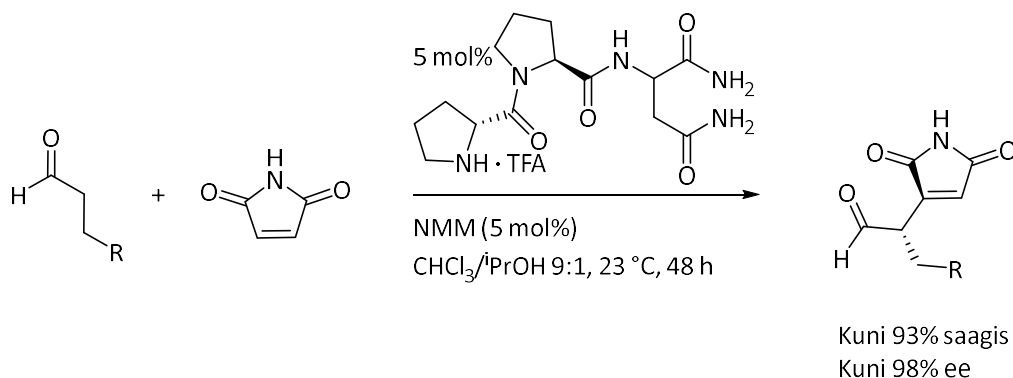
Skeem 3. Enantioselektiivne jodolaktoneerimis reaktsioon, milles esineb lühiajaline halogeenside.²⁵

1.3 Oligopeptiidid ja nende rakendus asümmeetrilises organokatalüüsis

Peptiidid on biopolümeerid, mis koosnevad aminohappejääkidest ja neid ühendab peptiidside. Oligopeptiidid on peptiidid, kus aminohappejääkide arv peptiidis jääb alla 15.⁸ Peptiidid on muutunud üha populaarsemaks asümmeetriliste katalüsaatoritena mitmesuguste reaktsioonide jaoks.²⁶ Peptiidid võivad katalüüsida aldoolreaktsioone, epoksüdatsiooni reaktsioone, atsüüli ülekande reaktsioone, konjugeeritud liitumis reaktsioone, tsükelliitumis reaktsioone jt.²⁷ Peptiidid, mis koosnevad samadest ehitusplokkidest nagu ensüümid, võivad luua kiraalse sidumiskeskonna, milles doonor aktiveeritakse ja reageerib sissetuleva aktseptoriga nii, et tulemuseks võivad olla enantiomeerselt rikastatud produktid.²⁸ Sünteetilised peptiidid kui olulised kunstlikud ensüümid on atraktiivsed, kuna struktuurilisi modifikatsioone on lihtne teha ja läbi selle katalüsaatori katalüütilisi omadusi peenhäälestada.²⁹

Viimastel aastatel on muutunud üha populaarsemaks sekundaarsete amiinide, nagu proliini, kasutamine aldooli ja aldooli tüüpi reaktsioonide katalüüsiks. Asümmeetriline aldoolreaktsioon, millega saab moodustada uusi C-C sidemeid ja tekitada kiraalseid molekule, on orgaanilises sünteesis üks võtmereaktsioonidest, millel on märkimisväärne bioloogiline ja prebioloogiline tähtsus.²⁹ Paljude substraatide puhul saavutatakse hea enantioselektiivsus kuid sageli on vaja kasutada suurtes kogustes katalüsaatorit, et teha tasa katalüsaatori madal aktiivsus. Nii väikeste katalüsaatorite nagu proliini puhul võib olla raske vältida madalat reaktsioonivõimet, kuna struktuursete modifikatsioonide jaoks on suhteliselt vähe võimalusi. Peptiidid, vastupidiselt amiinidele, pakuvad palju funktsionaalse ja struktuurilise mitmekesisusega asukohti, mida saab kasutada optimeeritud katalüsaatorite genereerimiseks. Seega võivad peptiidid olla ideaalne kompromiss väikeste jäikade organokatalüsaatorite ja ensüümide vahel.³⁰ Teadlased on asümmeetrilises aldoolreaktsioonis keskendunud peamiselt kahele peptiidi klassile. Esimene neist on peptiidid, millel on proliin N-terminuses ja teise klassi alla kuuluvad peptiidid, millel on N-terminuses primaarne aminohape. Viimane on rohkem huvipakkavam, kuna N-terminaalne primaarne amiin on looduslike aldolaaside aktiivtsenris katalüütiline funktsionaalrühm.²⁹

Kuid samas Wennermersi grupi poolt sünteesitud H-D-Pro-Pro-Asp-NH₂ oligopeptiide ning selle analooge saab efektiivselt kasutada asümmeetrilistes konjugeeritud liitumisreaktsioonides peamiselt aldehüüdide ja nitroolefiinide vahel. Nendes reaktsioonides annab H-D-Pro-Pro-Asp-NH₂ hea saagise ja enantiomeerse liia.²⁶ Peptiidi H-D-Pro-Pro-Asn-NH₂ saab kasutada ka katalüsaatorina aldehüüdide stereoselektiivsetele 1,4-liitumisreaktsioonidele kaitsmata maleimiididega (Skeem 4.). Katalüsaatori ja maleimiidi vaheline vesinikside on võtmetähtsusega ebaproduktiivsete kõrvalreaktsioonide vältimiseks ja süsteemi suunamiseks soovitud C-C sideme moodustumiseks. Saadud suktsiinimiide saab hõlpsasti muundada teisteks sünteetiliselt kasulikeks ühenditeks, nagu pürrolidiinid, laktaamid ja laktoonid.³¹

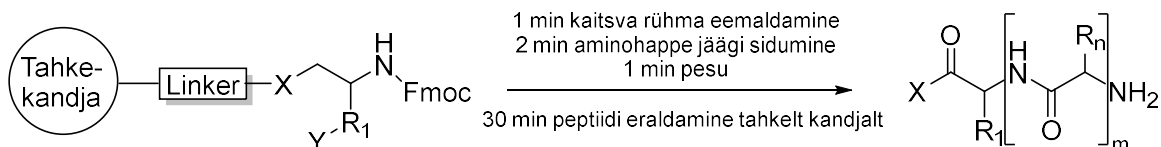


Skeem 4. H-D-Pro-Pro-Asn-NH₂ katalüüsitud reaktsioon aldehüüdi ja maleimiidi vahel³¹

1.4 Peptiidsüntees tahkel kandjal

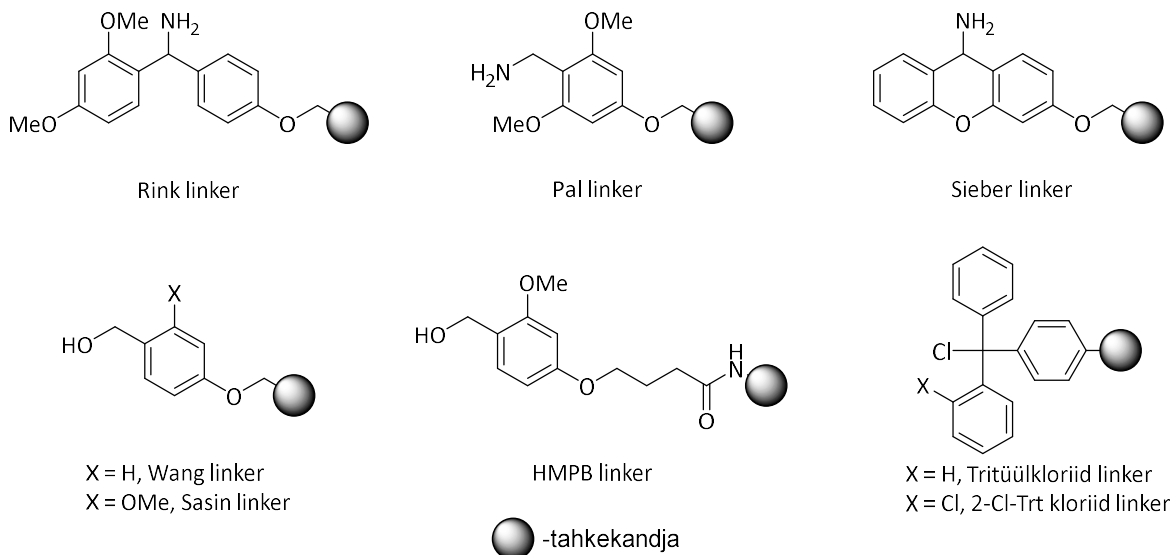
Praegu hõlmab peptiidide süntees suurt hulka tehnikaid ja protseduure, mis võimaldavad valmistada ühendeid alates väikestest peptiididest kuni suurte valkudeni. Bruce Merrifieldi teedrajav töö, kes võttis kasutusele peptiidsünteesi tahkelkandjal (solid phase peptide synthesis,

SPPS), muutis dramaatiliselt peptiidide sünteesi strateegiat ja lihtsustas lahusefaasi sünteesiga seotud tüütuid ja nõudlikke puhastamisetappe. Kuna peptiidide sünteesis hõlmab arvukalt korduvaid etappe, on tahke kandja kasutamisel ilmsed eelised. Sellise süsteemi korral võib reaktiivide suur liig kõrges kontsentratsioonis viia reaktsioonid lõpuni. Liigsed reaktiivid ja kõrvalsaadused saab eraldada kasvavast ja lahustumatust peptiidist lihtsalt filtreerimise ja pesemise teel ning kõik sünteesietapid saab läbi viia samas anumus ilma aine ülekandmisteta.¹⁰



Skeem 5. Kõrge efektiivsusega SPPS¹¹

Fmoc-keemia on domineeriv kasutusel olev meetod, millel on aluslabiilne α -amino Fmoc kaitsev rühm koos happelabiilse kõrvalahela kaitse rühmaga ja peptiid-tahkekandja linker.¹¹ Enamik sünteetilisi peptiide valmistatakse nüüd Fmoc SPPS abil. Klassikalist Boc SPPS-i kasutatakse nüüd üldiselt ainult spetsiifilistes olukordades. Esiugu tulenes Fmoc-keemia edu sellest, et mittekeemikud võtsid selle kiiresti kasutusele, kuna bioloogid mõistsid, et nad suudavad odavate masinate abil kiiresti valmistada antikehade tootmiseks sobivaid peptiide ja vältida veevaba vesinikfluoriidi kasutamist. Fmoc SPPS-i on lihtne automatiseerida, kuna sünteetilistes tsüklites ei ole vaja söövitatavat TFA-d ja kuna kaitse eemaldamine vabastab tugevate UV-neeldumisomadustega fluoreenrühma, mida saab kasutada kui indikaatorina, andes aimu sünteesi õnnestumisest.¹²



Skeem 6. Sagedaselt kasutatud linkerid tahketel kandjatel¹⁰

Kuigi SPPS on peptiidide tootmiseks oluline, siis on sellel ka omad probleemid. Protsessi muudab keeruliseks peptiidide agregeerumine, mis arvatakse pärinevat peamiselt molekulide vahelistest vesiniksidemetest. See muudab ahela reaktiivse otsa kättesaamatuks, muutes seeläbi deblokeerimis või atsüülimis etapid keerulisemaks. Lisaks võivad steriilsed takistused alandada reaktsioonikiirust, kui terminaalne amiin on sekundaarne (st proliin, N-asendatud aminohapped) või kui esinevad mahukad kaitserühmad kõrvalahelal. Mittetäielik reaktsioon sünteesis, mis tahes

etapis viib kasutuskõlbmatu järjestuseni, mida võib olla äärmiselt raske soovitud sihtjärjestusest eraldada. Samal ajal võib varem kasutatud peptiidreaktiivide mittetäielik eemaldamine põhjustada saasteid, nagu asendused ja lisa järjestusi, osaledes soovimatult järgmises sünteesi etapides. Selle tulemusel viiakse SPPS tavaliselt läbi pikkade reaktsiooniaegade, suure reaktiivide liiaga ja paljude korduvate pesemisetappidega iga etapi vahel.¹¹ Sünteesides suuri peptiide, kõrvalreaktsioonid võivad takistada üldist sünteesi, mille tulemuseks on saagise ja/või kvaliteedi langus. Aspartimiidi moodustumine on Fmoc-põhise SPPS-i peamine probleem. Aspartimiid moodustub asparagiinhapet sisaldavatel peptiididel, millal Fmoc eemaldatakse piperidiiniga. Aspartimiidi tekke põhjuseks on amiidi lämmastiku atakk aspartaadi kõrvalahela karbonüülrühmale, siis kui antud aminohape kõrvalahel on kaitstud tert-butüül estrina. Aspartimiidi moodustumise kalduvus sõltub peamiselt aspartaadi karboksüülrühma naaberjärgist.³²

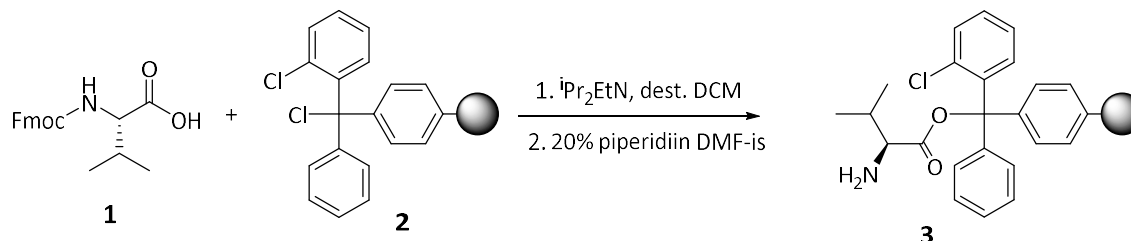
2. Töö eesmärk

XB-donoorsed katalüsaatorid ja peptiidid on näidanud efektiivseid tulemusi asümmeetrilises organokatalüüsis, andes kõrget saagist ja enantiomeerset liiga.^{5,25} Seega käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli sünteesida modifitseeritud dipeptiid katalüsaator, mis sisaldaks halogeensideme-donoorset fragmenti. Katalüsaatori sünteesi lihtsustamiseks ja kiirendamiseks sünteesiti see tahkel kandjal.

3. Tulemused ja arutelu

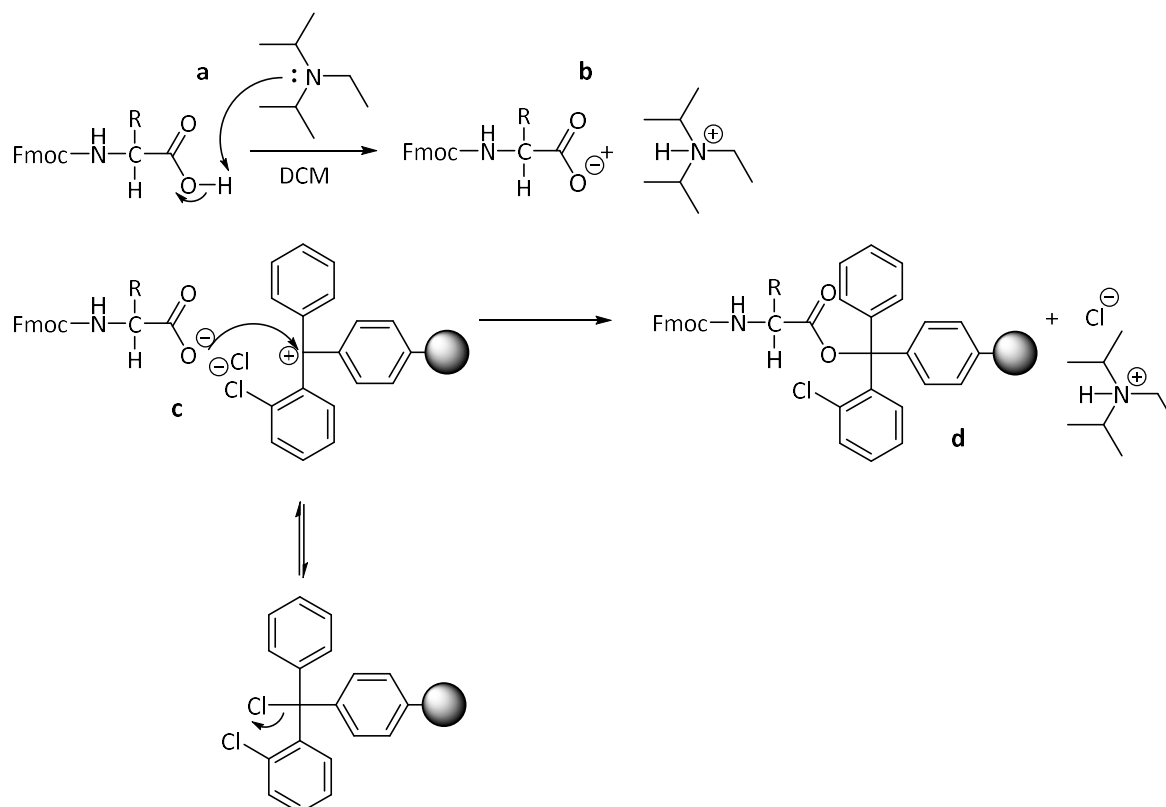
Antud töös otsustati kasutada katalüsaatori sünteesiks SPPS meetodit. SPPS-i kasuks otsustati, sest väiksele skaalal on selle meetodiga lihtne ja kiire sünteesida peptiide. Katalüsaatori valmistamiseks järgiti Wennemers et al. sünteesi eeskirja.³¹

3.1 Aminohappe lisamine tahkekandjale



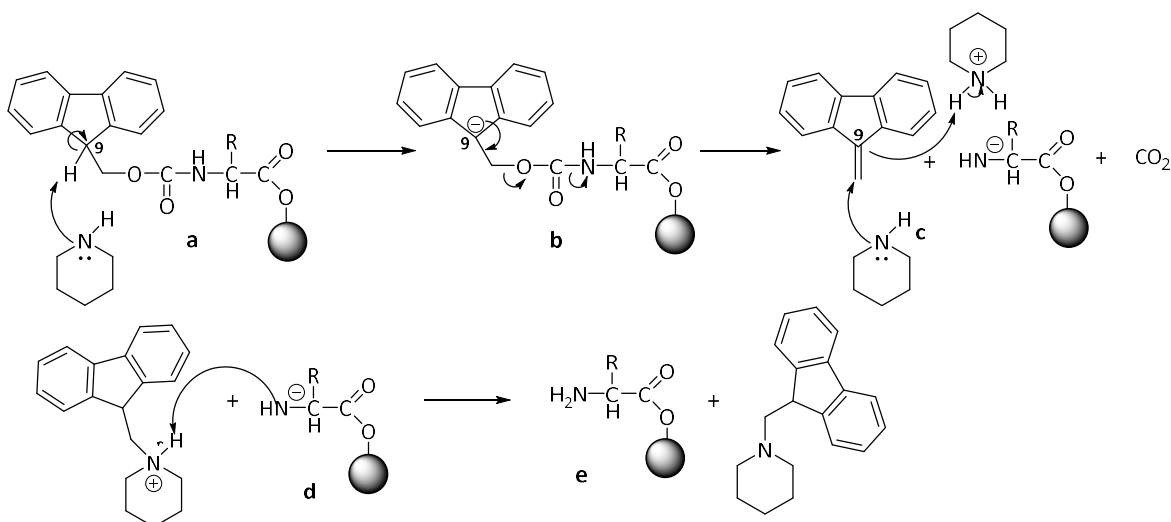
Skeem 7. Valiini lisamine tahkekandjale

Selles töös kasutati katalüsaatori sünteesiks 2-Cl-Trt kloriid tahkekandjat **2**. 2-Cl-Trt kloriidi kasuks otsustati, sest sellega saab kiirelt lisada esimese aminohappe tahkekandjale, nii et ei toimuks aminohappe ratsemiseerumist. 2-Cl-Trt kloriid vältib diketopiperasiini moodustumist, tänu oma suuremahulisele struktuurile. Lisaks saab sünteesitud peptiidi eemaldada tahkekandjalt nõrgalt happelistes tingimustes, mõjutamata kõrvalahela kaitsvaid rühmi.³³ Esimese asjana oli vaja tahkekandjat destilleeritud DCM-is loksutada, et see DCM-iga immutatud oleks. DCM peab olema eelnevalt destilleeritud, et tahkekandja linker ei reageeriks veega. Esimese monokaitstud aminohappena lisati tahkele kandjale Fmoc-L-valiin **1**. Alusena kasutati tertsiarset amiini $i\text{Pr}_2\text{EtN}$, mis võtab aminohappelt prootoni, muutes selle heaks nukleofiiliks (Skeem 8. a, b). Lahuses olles võib kloor lahkuda tritüüli linkerilt, mille järel tekib karbokatioon. Nukleofiilne aminohape atakeerib karbokatiooni ning tekib esterside (Skeem 8. c, d).³⁴ Peale reaktsiooni lõppu pesti tahkekandjat filtrimise teel.



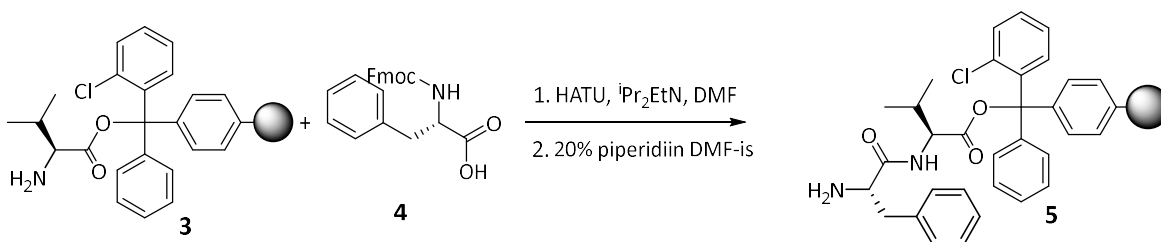
Skeem 8. Aminohappe tahkekandjale lisamise mehhanism, kus R on valiini kõrvalahel

Sejärel eemaldati Fmoc kaitsevrühm piperidiini DMF-i lahusega. Fmoc-i eemaldamine toimub kaheetapilise mehhanismi kaudu: happelise prootoni eemaldamine fluoreeni tsükli süsteemi 9. positsioonist piperidiiniga ja sellele järgnev β -eliminatsioon, mis annab väga reaktiivse dibensofulveeni vaheühendi, mis püütakse piperidiini poolt kinni, moodustades stabiilsed ühendid (Skeem 9.). Peale reaktsiooni ja pesu kontrolliti ÖKK-ga kas Fmoc-i eemaldamine oli edukas. Selleks võeti reaktorist paar kübekest tahkekandjat ja töödeldi seda TFA-ga, et L-valiin tahkekandjalt eemaldada. UV valguse all midagi ÖKK plaadil ei neelanud, vihjades Fmoci mitte olemasolule. Plaadi ilmutamisel ninhüdriniga ja kuumutamisel väike osa plaadi piirkonnast muutus punaseks, mis on tõestuseks vaba amino rühma olemasolule. Lisaks võeti reaktorist proov (50 mg), millel aminohape eemaldati tahkekandjalt TFA-ga, et teha ^1H TMR analüüs. TMR analüüsis oli näha ainult valiinile iseloomulike piike (Lisa 1.). TMR analüüs tehti peale Fmoc-i eemaldamist, sest Fmoc-ga proovid andsid tundmatuid lisa piike, mis annavad vale ettekujutuse, et uuritav proov esineb koos lisanditega, kuid tegelikkuses võivad Fmoc-ga esineda rotameerid, mis annavad lisa piike. Kahe erineva analüüsi põhjal sai järeldada, et valiin sai edukalt tahkekandjale kantud ja Fmoc aminohapelt eemaldatud. Paraku kvantitatiivselt ei suudetud määrata valiini seondumist tahkekandjale, sest kaalutis oli rohkem kui teoreetiliselt välja arvatud. Põhjuseks oli TFA olemasolule proovis.



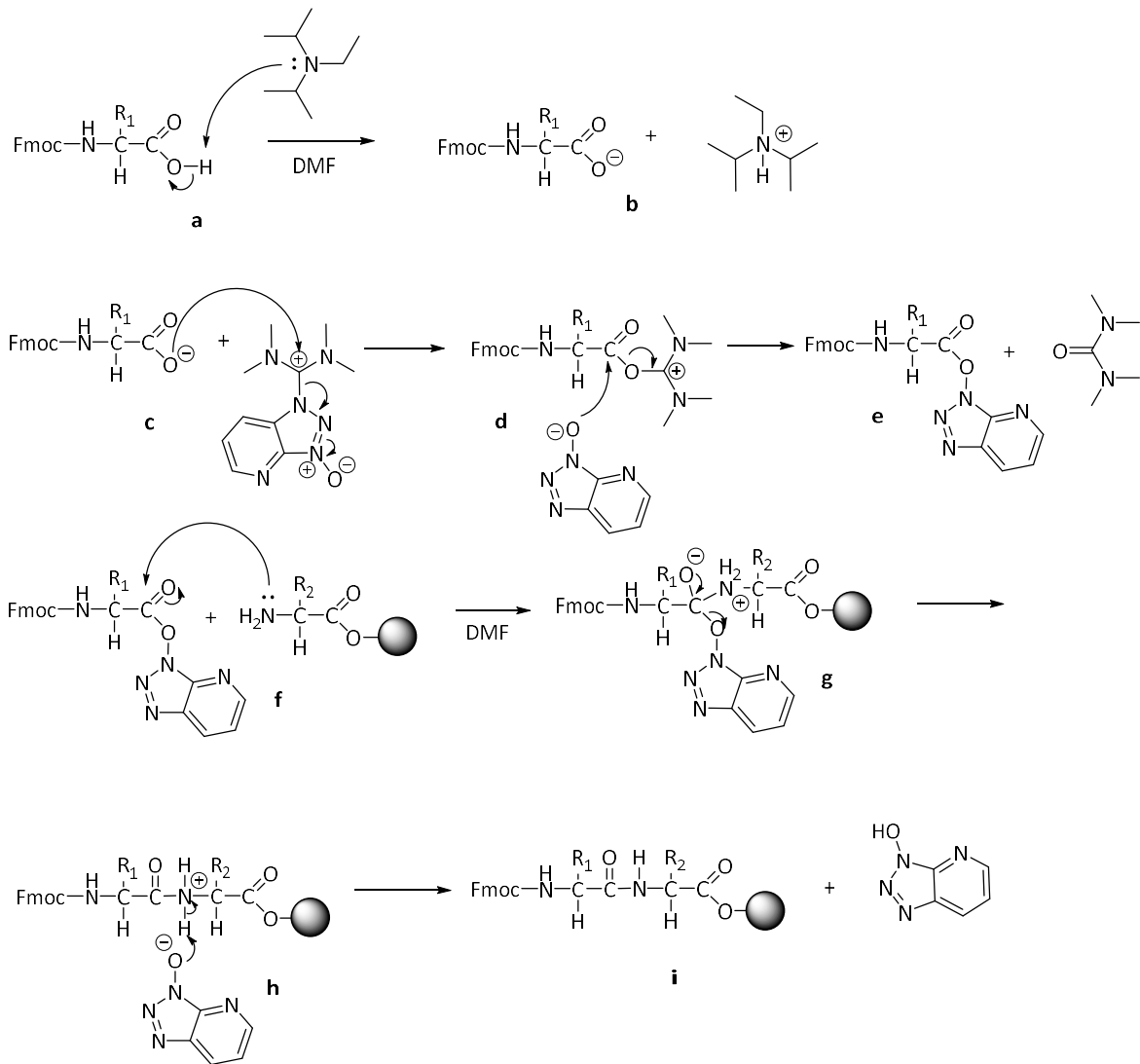
Skeem 9. Piperidiiniga Fmoc-i eemaldamise mehhanism, kus R on valiini kõrvalahel⁷

3.2 Teise aminohappe lisamine tahkekandjale



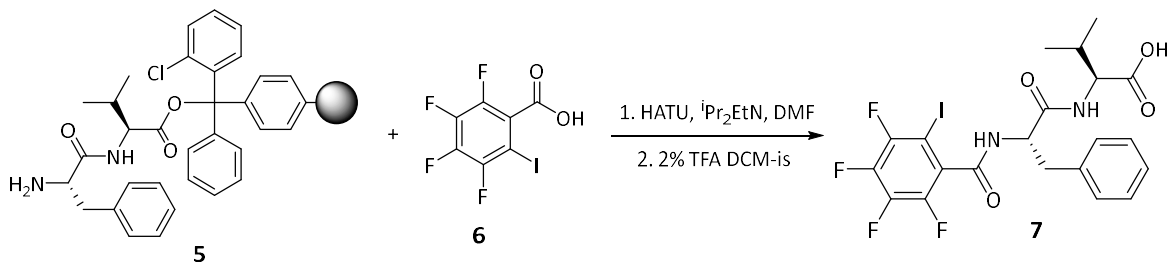
Skeem 10. Fenüülalaniini lisamine tahkekandjale

Teise monokaitstud aminohappena lisati Fmoc-L-fenüülalaniin **4**. Aminohappe aktiveerimiseks kasutati HATU-t ja $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ -i. Aminohappe Fmoc-L-Phe aktiveerimise esimeses etapis deprotoneerib $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ aminohappe karboksüülhappe (Skeem 11. a). Tekkinud karboksülaadi anioon atakeerib HATU-d, moodustades ebastabiilse O-atsüül(tetrametüül)isurooniumsoola (Skeem 11. c, d). Oat anioon ründab kiiresti isurooniumsoola, andes Oat-aktiivse estri ja vabastades stöhhiomeetrilise koguse tetrametüüluureat (Skeem 11. d, e). Nukleofiili, näiteks amiini lisamine Oat-aktiivsele estrile moodustub peptiidside (Skeem 11. f-i). Reaktsiooni lõppedes pesti tahkekandjat ja tehti ÕKK, et kontrollida reaktsiooni edukust. ÕKK plaadil oli UV valguses näha varju, mis viitas Fmoc rühma sisaldava dipeptiidi olemasolule. Seejärel eemaldati Fmoc piperidiini DMF-i lahusega ja tehti ÕKK analüüs, et veenduda Fmoc-i eemaldamises. Ninhüdriini ilmutamisega ja kuumutamisega värvus väike piirkond punaseks, mis viitas Fmoc-ist vabastatud dipeptiidi olemasolule. Reaktorist võeti proov (50 mg), millel dipeptiid eemaldati tahkekandjalt 2% TFA DCM-i lahusega, et teha TMR analüüs. TMR ^1H oli näha Phe-Val-ni iseloomulike piike (Lisa 2.).



Skeem 11. Peptiidile Fmoc kaitstud aminohappe lisamise mehhanism kasutades HATU-t ja *i*Pr₂EtN-i, kus R₁ on fenüülalaniini ja R₂ valiini kõrvalahelad⁷

3.3 Dipeptiidile XB-doonori lisamine ja katalüsaatori eemaldamine tahkekandjalt



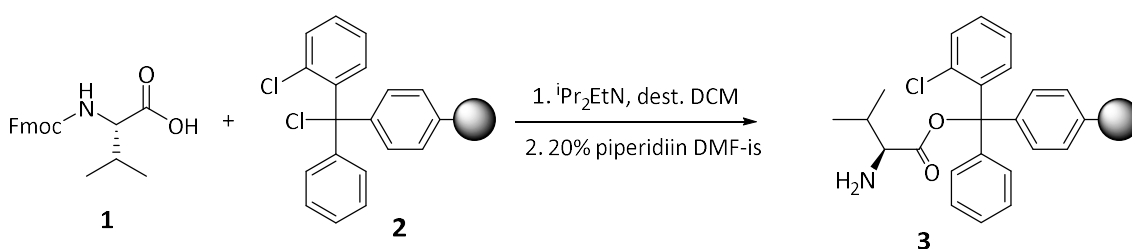
Skeem 12. XB-doonori lisamine ja katalüsaatori eemaldamine tahkekandjalt

XB-donoorseks fragmendiks valiti F₄IBA **6**, sest see on olnud väga efektiivne XB doonor organokatalüüsis.^{6,35,36} XB doonori aktiveerimiseks ja lisamiseks dipeptiidile kasutati HATU-t ja ⁱPr₂EtN-i. Selle mehhanism on sama, mis on Skeem 11. välja toodud. Peale reaktsiooni lõppu pesti tahkekandjat filtreerimisel ning seejärel eemaldati katalüsaator **7** tahkekandjalt 2% TFA DCM-i lahusega. Saadud segust, mis sisaldas soovitud katalüsaatorit **7**, konsentreeriti vaakumrotatsioonaurustil. ÖKK analüüsis oli näha lisaks katalüsaatorile **7** kordades apolaarsemat ja UV neelduvat tundmatut ühendit, mille päritolu võib olla tahkekandja polümeeri lagunemisest. Eialgu prooviti katalüsaatorit puhastada sadestamise teel, nagu Wennermersi teadusgrupp on oma tripeptiididega teinud.³¹ Katalüsaator **7** lahustati minimaalselt MeOH-s ning lisati PE, aga katalüsaator **7** ei sadenenud välja lahusest. MeOH ja PE eemaldati vaakumrotatsioonaurustil. Teisel korral prooviti katalüsaatorit **7** puhastada automaat kolonnkromatograafias. Kuna katalüsaator **7** ei lahustunud sobiliku eluentsüsteemi lahuses, siis lahustati soovitud produkt MeOH-s, lisati 1 g silikageeli ning seejärel eemaldati MeOH vaakumrotatsioonaurustil. Alles jäänud silikageeli ja katalüsaatori segu kanti üle kolonni ning teostati kolonnkromatograafia puhastamis protsessi. Katalüsaatorit **7** sisaldavad fraktsioonid koguti kokku ja solvendid eemaldati vaakumrotatsioonaurustil. Tulemuseks saadi 158 mg valget tahket.

4. Eksperimentaalne osa

Õhukese kihi kromatograafia (ÕKK) analüüsimiseks kasutati Mercki silikageeli plaate 60 F₂₅₄. Automaatne kolonnkromatograafia teostati kasutades Kieselgel silikageeli (0,04-0,063 mm). TMR ¹H, ¹³C ja ¹⁹F spektrid mõõdeti deuteeritud metanoolis Brucker Avance III 400 MHz spektromeetriga ja tõlgendati kasutades MestReNova programmi, MeOD solvendi piiki δ=3,31/49,0 kasutati keemiliste nihete referentsina. Kommertsiaalseid reagente kasutati ilma täiendava puhastamiseta. Ühe niiskustundliku reaktsiooni puhul destilleeriti DCM P₂O₅-lt.

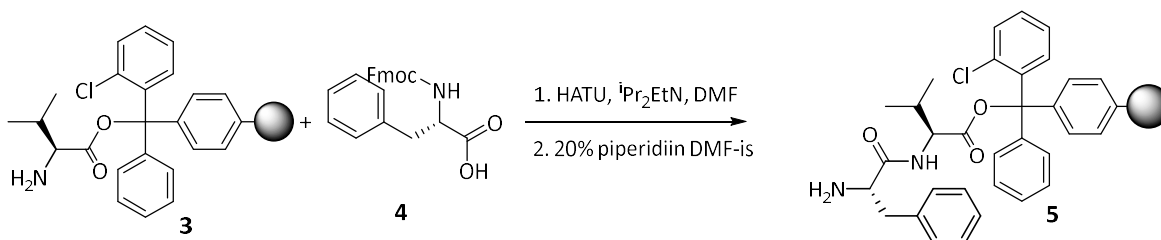
4.1 Fmoc-L-Val lisamine tahkele kandjale ja Fmoc-i eemaldamine



2-Cl-Trt kloriidi tahkekandjat **2** (563 mg, 0,6 mmol, 1,082 mmol/g) loksutati destilleeritud DCM-is (10 ml) 30 minutit. Fmoc-L-Val **1** (637 mg, 1,8 mmol) lahustati destilleeritud DCM-is (7,2 ml) ja lisati *i*Pr₂EtN-i (612 µl, 3,6 mmol). Destilleeritud DCM filtreeriti reaktorist välja. Reaktorisse lisati aktiveeritud Fmoc-L-Val **1** lahuse segu. Reaktorit loksutati 90 minutit. Lahus eemaldati reaktorist. Tahkekandjat pesti **3** DCM, MeOH, *i*Pr₂EtN seguga (5 x 6 ml, 17:2:1), DCM-ga (5 x 6 ml), DMF-ga (5 x 6 ml), EtOAc-ga (3 x 10 ml) ja DCM-ga (5 x 6 ml). Reaktsiooni tulemust kontrolliti ÕKK-ga (5% MeOH, 94% DCM ja 1% HCOOH). Fmoc-i eemaldamiseks lisati 20% piperidiini lahust DMF-is (11 ml). Pärast 10 minutit reaktori loksutamist lahus eemaldati filtreerimis teel. Fmoc-i eemaldamis protseduuri korrati teist korda. Produkti **3** pesti DMF-ga (3 x 6 ml) ja DCM-ga (3 x 6 ml). Fmoc-i eemaldamise tulemust kontrolliti ÕKK-ga (5% MeOH, 94% DCM ja 1% HCOOH) ja ¹H TMR analüüsiga.

Lisa 1. ¹H TMR spekter

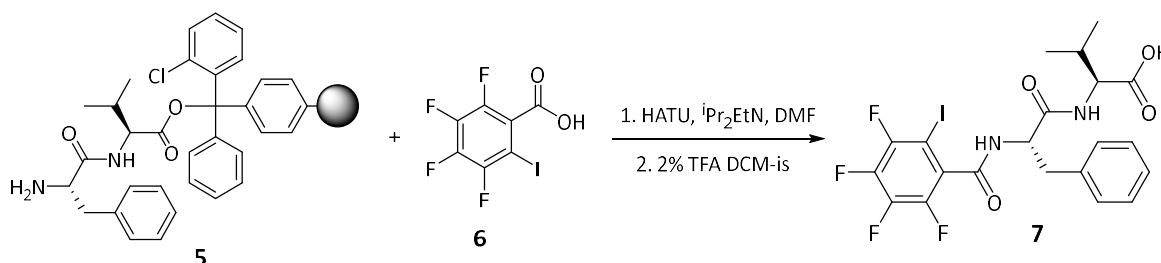
4.2 Fmoc- Phe lisamine ja Fmoc-i eemaldamine



HATU (685 mg, 1,8 mmol) ja Fmoc-Phe **4** (702 mg, 1,8 mmol) lahustati DMF-is (12 ml) ja lisati $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ -i (612 μl , 3,6 mmol). Lahus lisati peptiidiga tahkekandjat **3** sisaldavasse reaktorisse ja loksutati 120 minutit. Lahus eemaldati reaktorist filtrimisel. Produkti **5** pesti DMF-ga (3 x 6 ml) ja DCM-ga (5 x 6 ml). Reaktsiooni tulemust kontrolliti ÖKK-ga (5% MeOH, 94% DCM ja 1% HCOOH). Fmoc-i eemaldamiseks lisati 20% piperidiini lahust DMF-is (11 ml). Pärast 10 minutit reaktori loksutamist lahus eemaldati filtreerimis teel. Fmoc-i eemaldamis protseduuri korrati teist korda. Produkti **5** pesti DMF-ga (3 x 6 ml) ja DCM-ga (3 x 6 ml). Fmoc-i eemaldamise tulemust kontrolliti ÖKK-ga (10% MeOH, 89% DCM ja 1% HCOOH) ja ^1H TMR analüüsiga.

Lisa 2. ^1H TMR spekter

4.3 XB-doonori lisamine ja didpeptiidi mahavõtmine tahkekandjalt



HATU (303 mg, 0,81mmol) ja F_4IBA **6** (257 mg, 0,81 mmol) lahustati DMF-is (5,4 ml) ja $i\text{Pr}_2\text{EtN}$ -is (276 μl , 1,62 mmol). Lahus lisati dipeptiidiga tahkekandjat **5** (336 mg) sisaldavasse reaktorisse ja loksutati 120 minutit. Lahus eemaldati reaktorist ja produkti **7** pesti DMF-ga (3 x 5 ml) ja DCM-ga (5 x 5 ml). Valmis katalüsaatori **7** eemaldamiseks tahkelt kandjalt valmistati 2% TFA lahust DCM-is (13,5 ml). 2% TFA (9 ml) lahust lisati reaktorisse ja loksutati 30 minutit, lahus koguti kolbi ja sama korrati veel 2% TFA (4,5 ml) lahusega. Solvendid eemaldati vaakumrotatsioonaurustil. Katalüsaator **7** puhastati kolonnkromatograafiliselt (MeOH DCM-s 3 \rightarrow 4%). Tulemuseks saadi 158 mg valget tahket.

HRMS (ESI): m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ arvutatud $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_4\text{IN}_2\text{O}_4$: 567.0398; mõõdetud: 567.0394

Lisa 3. ^1H TMR spekter

Lisa 4. ^{13}C TMR spekter

Lisa 5. ^{19}F TMR spekter

Kokkuvõte

Organokatalüüs ehk väikeste orgaaniliste molekulide kasutamine orgaaniliste reaktsioonide katalüüsiks on suhteliselt uus ja populaarne valdkond kiraalsete molekulide või enantioselektiivse sünteesi valdkonnas.³⁷ Tänapäeval ulatub organokatalüüs keerukate molekulaarsüsteemide loomisest selle tehnilistes sünteesiprotsessides kaasamiseni, seda eriti keskkonnasõbralike tehnikate osas.¹³ Halogeensideme (XB) kasutus katalüütilisel eesmärgil on avanud ukse organokatalüüsi uue valdkonna arendamiseks ja üha rohkem publikatsioonide käsitletud XB-de katalüütilisi rakendusi.⁵ Aastakümned pärast aminohappe esmakordset kasutamist katalüsaatorina on aminohapetest ja lihtsatest peptiididest saanud asümmeetriliste katalüsaatorite oluline alamhulk. Tänapäeval kasutatakse aminohappeid ja erinevate pikkustega peptiide asümmeetriliste katalüsaatoritena. Tulevikus sünteesitakse kahtlemata katalüsaatoreid, mis sisaldavad laiemat valikut nii looduslike kui ka mittelooduslike aminohappeid. Edusammud stabiilsete sekundaarsete ja tertsiaarsete struktuuridega peptiidide kujundamisel võetakse kasutusele uute asümmeetriliste keskkondadena reaktiivse funktsionaalsuse jaoks.²⁷ Peptiidisüntees tahkel kindjal (SPPS) on osutunud hindamatuks mitmesuguste looduslike ja modifitseeritud peptiidi järjestuste edukaks konstrueerimiseks.¹¹ Enamiku sünteetilisi peptiide valmistatakse tänapäeval Fmoc SPPS-ga. Fmoc SPPS on väga laialdaselt kasutatav ja tõhus, kuid sellel on veel pikk tee oma täieliku potentsiaali saavutamiseni.¹²

Käesolevas töös sünteesiti XB-doonorset fragmenti sisaldav modifitseeritud dipeptiid, sest sellel on potentsiaalselt asümmeetriline katalüütiline funktsioon. Selle sünteesimiseks kasutati peptiidisüntees tahkel kandja meetodit. Sünteesis kasutatud tahkel kandjal oli 2-Cl-Trt kloriid linker. Mõlemad aminohapped, mis sünteesi käigus tahkele kandjale lisati, olid Fmoc kaitsva rühmaga. XB-doonorina lisati dipeptiidile tetrafluorjodobensoehape. Süntees oli edukas ning selle muutis lihtsaks ja kiireks SPPS meetodi valik. Sünteesitud katalüsaator oli XB-L-Phe-L-Val.

Abstract

Organocatalysis, the use of small organic molecules to catalyze organic substances, is a new and popular field in the domain of chiral molecules or enantioselective synthesis.³⁷ Today, organocatalysis ranges from the creation of complex molecular systems to its inclusion in technical synthesis processes, especially in terms of environmentally friendly techniques.¹³ The use of halogen bond (XB) for catalytic purposes has opened the door to the development of a new field of organocatalysis, and more and more publications have addressed the catalytic applications of XBs.⁵ Decades after the first use of an amino acid as a catalyst, amino acids and simple peptides have become an important subset of asymmetric catalysts. Today, amino acids and peptides of different lengths are used as asymmetric catalysts. Catalysts containing a wider variety of both natural and unnatural amino acids will undoubtedly be synthesized in the future. Advances in the design of peptides with stable secondary and tertiary structures are introduced as new asymmetric environments for reactive functionality.²⁷ Solid phase peptide synthesis (SPPS) has proven invaluable for the successful construction of a variety of natural and modified peptide sequences.¹¹ Nowadays most synthetic peptides are made with Fmoc SPPS. Fmoc SPPS is very widely applicable and effective, but still has a long way to go to reach its full potential.¹²

In the present work, a modified dipeptide containing an XB-donor fragment was synthesized because it has a potentially asymmetric catalytic function. Solid phase peptide synthesis method was used to synthesize it. The resin used in the synthesis had a 2-Cl-Trt chloride linker. Both amino acids, which were added to the resin during the synthesis, had an Fmoc protecting group. Tetrafluoroiodobenzoic acid was added to the dipeptide as an XB donor. The synthesis was successful and was made simple and fast by the choice of the SPPS method. The synthesized catalyst was XB-L-Phe-L-Val.

Tänuavaldus

Eelkõige soovin tänada oma juhendajat, katalüüsi uurimisrühma doktorant-nooremteadur Harry Martõnovit, suurepärase juhendamise eest nii laboratoorse osa teostamisel kui ka käesoleva töö kirjutamisel.

Tänan ka katalüüsi uurimisrühma juhti, professor Tõnis Kangerit, võimaluse eest tema uurimisrühmas bakalaureusetööd teha.

Kasutatud materjalid

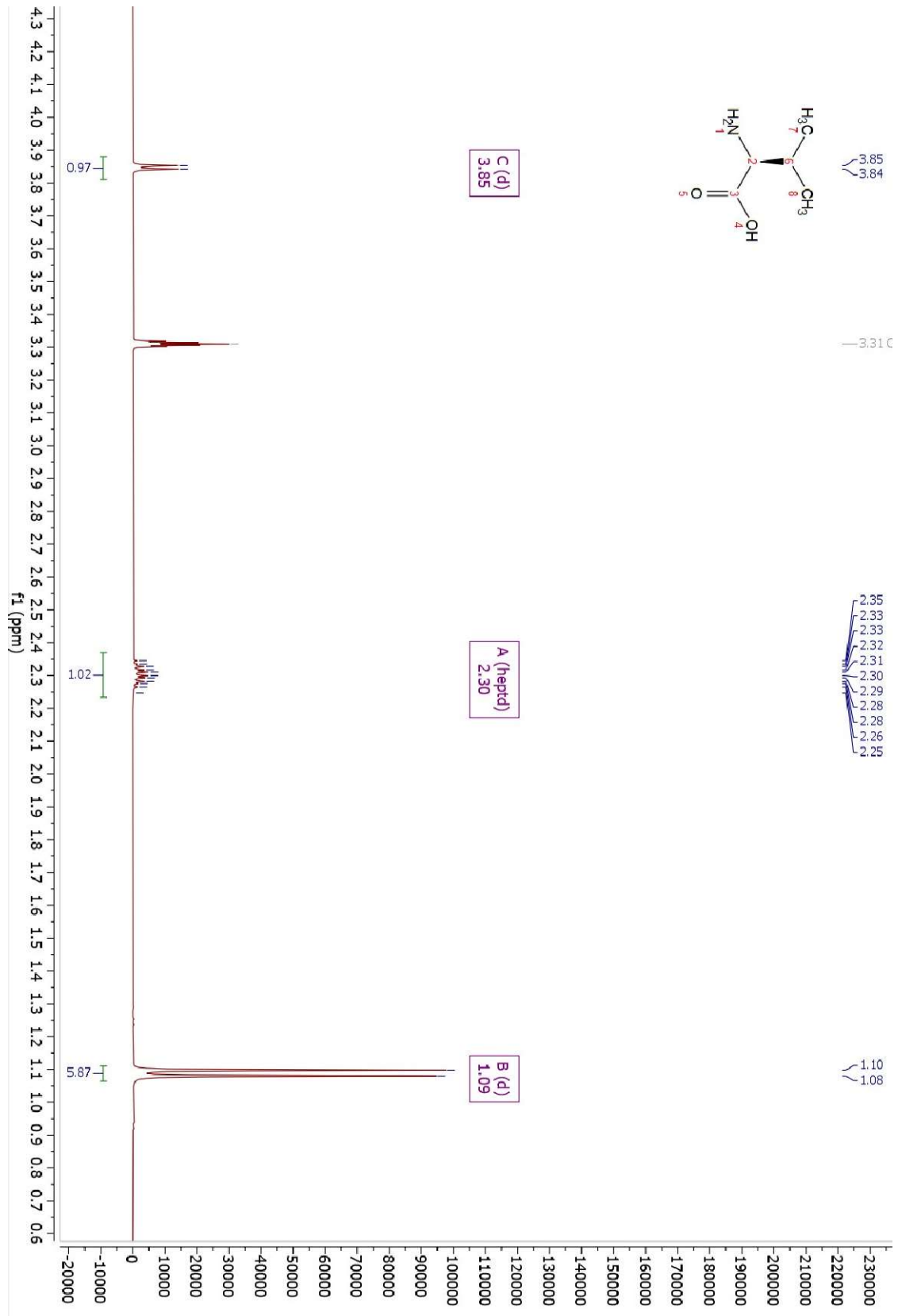
1. Xiang, S. H. & Tan, B. Advances in asymmetric organocatalysis over the last 10 years. *Nature Communications* vol. 11 (2020).
2. Jaroch, S., Weinmann, H. & Zeitler, K. Asymmetric organocatalysis. *ChemMedChem* vol. 2 1261–1264 (2007).
3. Pellissier, H. Asymmetric organocatalysis. *Tetrahedron* vol. 63 9267–9331 (2007).
4. Berkessel, A. & Gröger, H. *Asymmetric Organocatalysis*. Wiley. (2005).
5. Kaasik, M. & Kanger, T. Supramolecular Halogen Bonds in Asymmetric Catalysis. *Frontiers in Chemistry* vol. 8 (2020).
6. Kaasik, M. *et al.* Enantioselective Michael addition to vinyl phosphonates via hydrogen bond-enhanced halogen bond catalysis. *Chem Sci* **12**, 7561–7568 (2021).
7. Pires, D. A. T., Bemquerer, M. P. & Do Nascimento, C. J. Some mechanistic aspects on Fmoc solid phase peptide synthesis. *Int J Pept Res Ther* **20**, 53–69 (2014).
8. Zamyatnin, A. A. Structural–functional diversity of the natural oligopeptides. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* vol. 133 1–8 (2018).
9. Giuliano, M. W. & Miller, S. J. Site-selective reactions with peptide-based catalysts. *Top Curr Chem* **372**, 157–202 (2015).
10. Amblard, M., Fehrentz, J.-A., Martinez, J. & Subra, G. *Modern Solid Phase Peptide Synthesis 239 MOLECULAR BIOTECHNOLOGY Methods and Protocols of Modern Solid Phase Peptide Synthesis. Molecular Biotechnology* (2006).
11. Collins, J. M., Porter, K. A., Singh, S. K. & Vanier, G. S. High-efficiency solid phase peptide synthesis (he -Spps). *Org Lett* **16**, 940–943 (2014).
12. Behrendt, R., White, P. & Offer, J. Advances in Fmoc solid-phase peptide synthesis. *Journal of Peptide Science* vol. 22 4–27 (2016).
13. Dondoni, A. & Massi, A. Asymmetric organocatalysis: From infancy to adolescence. *Angewandte Chemie - International Edition* vol. 47 4638–4660 (2008).
14. Alemán, J. & Cabrera, S. Applications of asymmetric organocatalysis in medicinal chemistry. *Chem Soc Rev* **42**, 774–793 (2013).

15. Moyano, A. Activation Modes In Asymmetric Organocatalysis. in *Stereoselective Organocatalysis* 11–80 John Wiley & Sons, Inc. (2013).
16. Zou, Y. Q., Hörmann, F. M. & Bach, T. Iminium and enamine catalysis in enantioselective photochemical reactions. *Chemical Society Reviews* vol. 47 278–290 (2018).
17. Merad, J., Lalli, C., Bernadat, G., Maury, J. & Masson, G. Enantioselective Brønsted Acid Catalysis as a Tool for the Synthesis of Natural Products and Pharmaceuticals. *Chemistry - A European Journal* vol. 24 3925–3943 (2018).
18. Lin, J. S. *et al.* Chiral Brønsted Acid Catalyzed Dynamic Kinetic Asymmetric Hydroamination of Racemic Allenes and Asymmetric Hydroamination of Dienes. *Angewandte Chemie - International Edition* **58**, 7092–7096 (2019).
19. Žabka, M. & Šebesta, R. Experimental and theoretical studies in hydrogen-bonding organocatalysis. *Molecules* vol. 20 15500–15524 (2015).
20. Arunan, E. *et al.* Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011). *Pure and Applied Chemistry* **83**, 1637–1641 (2011).
21. Cavallo, G. *et al.* The halogen bond. *Chemical Reviews* vol. 116 2478–2601 (2016).
22. Clark, T., Hennemann, M., Murray, J. S. & Politzer, P. Halogen bonding: The σ -hole: Proceedings of ‘Modeling interactions in biomolecules II’, Prague, September 5th–9th, 2005. *J Mol Model* **13**, 291–296 (2007).
23. Riley, K. E. *et al.* Halogen bond tunability I: The effects of aromatic fluorine substitution on the strengths of halogen-bonding interactions involving chlorine, bromine, and iodine. *J Mol Model* **17**, 3309–3318 (2011).
24. Heinen, F., Engelage, E., Dreger, A., Weiss, R. & Huber, S. M. Iod(III)-Verbindungen als Halogenbrückenkatalysatoren. *Angewandte Chemie* **130**, 3892–3896 (2018).
25. Bulfield, D. & Huber, S. M. *Halogen Bonding in Organic Synthesis and Organocatalysis*. *Chem. Eur. J* vol. 22 (2016).
26. Wiesner, M., Revell, J. D. & Wennemers, H. Tripeptides as efficient asymmetric catalysts for 1,4-addition reactions of aldehydes to nitroolefins - A rational approach. *Angewandte Chemie - International Edition* **47**, 1871–1874 (2008).
27. Jarvo, E. R. & Miller, S. J. *Amino acids and peptides as asymmetric organocatalysts*. (2002).
28. Kofoed, J., Nielsen, J. & Reymond, J. L. Discovery of new peptide-based catalysts for the direct asymmetric aldol reaction. *Bioorg Med Chem Lett* **13**, 2445–2447 (2003).

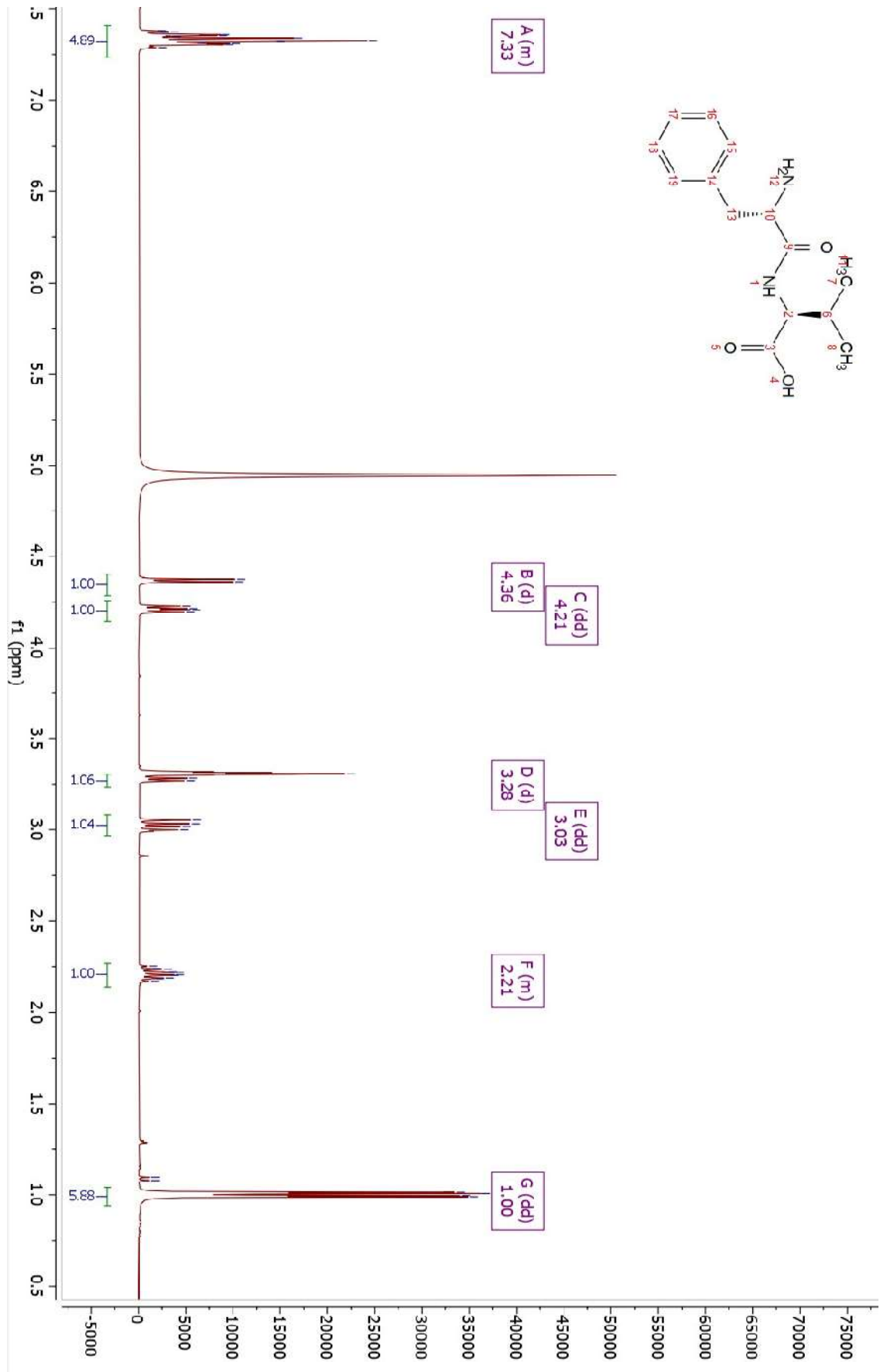
29. Wu, F. C. *et al.* N-primary-amine-terminal β -turn tetrapeptides as organocatalysts for highly enantioselective aldol reaction. *Journal of Organic Chemistry* **74**, 4812–4818 (2009).
30. Krattiger, P., Kovasy, R., Revell, J. D., Ivan, S. & Wennemers, H. Increased structural complexity leads to higher activity: Peptides as efficient and versatile catalysts for asymmetric aldol reactions. *Org Lett* **7**, 1101–1103 (2005).
31. Grünenfelder, C. E., Kisunzu, J. K. & Wennemers, H. Peptide-Catalyzed Stereoselective Conjugate Addition Reactions of Aldehydes to Maleimide. *Angewandte Chemie* **128**, 8713–8716 (2016).
32. Michels, T., Dölling, R., Haberkorn, U. & Mier, W. Acid-mediated prevention of aspartimide formation in solid phase peptide synthesis. *Org Lett* **14**, 5218–5221 (2012).
33. Ieronymaki, M. *et al.* Use of the 2-Chlorotrityl Chloride Resin for Microwave-Assisted Solid Phase Peptide Synthesis. *Biopolymers* **104**, 506–514 (2015).
34. Olga, K. B., Gatos, C. D. & Stavropoulos, G. 2-Chlorotrityl chloride resin Studies on a n c h o r i n g of Fmoc-amino acids and p e p t i d e cleavage. *J. Peptide Protein Res* vol. 37 (1991).
35. Kuwano, S., Suzuki, T., Hosaka, Y. & Arai, T. A chiral organic base catalyst with halogen-bonding-donor functionality: Asymmetric Mannich reactions of malononitrile with: N -Boc aldimines and ketimines. *Chemical Communications* **54**, 3847–3850 (2018).
36. Kuwano, S., Nishida, Y., Suzuki, T. & Arai, T. Catalytic Asymmetric Mannich-Type Reaction of Malononitrile with N-Boc α -Ketiminoesters Using Chiral Organic Base Catalyst with Halogen Bond Donor Functionality. *Adv Synth Catal* **362**, 1674–1678 (2020).
37. MacMillan, D. W. C. The advent and development of organocatalysis. *Nature* **455**, 304–308 (2008).

Lisad

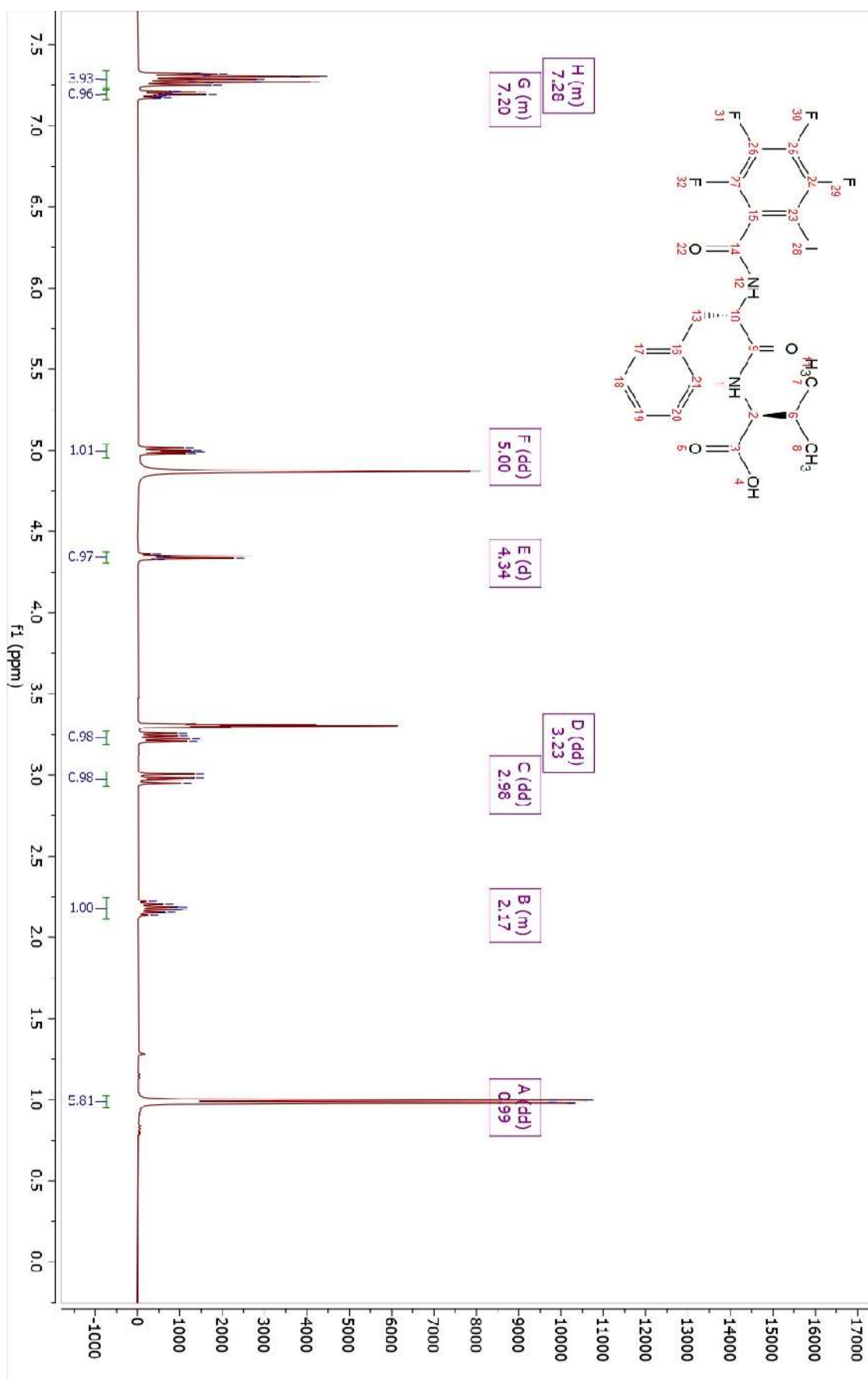
Lisa 1. Val ^1H TMR spekter



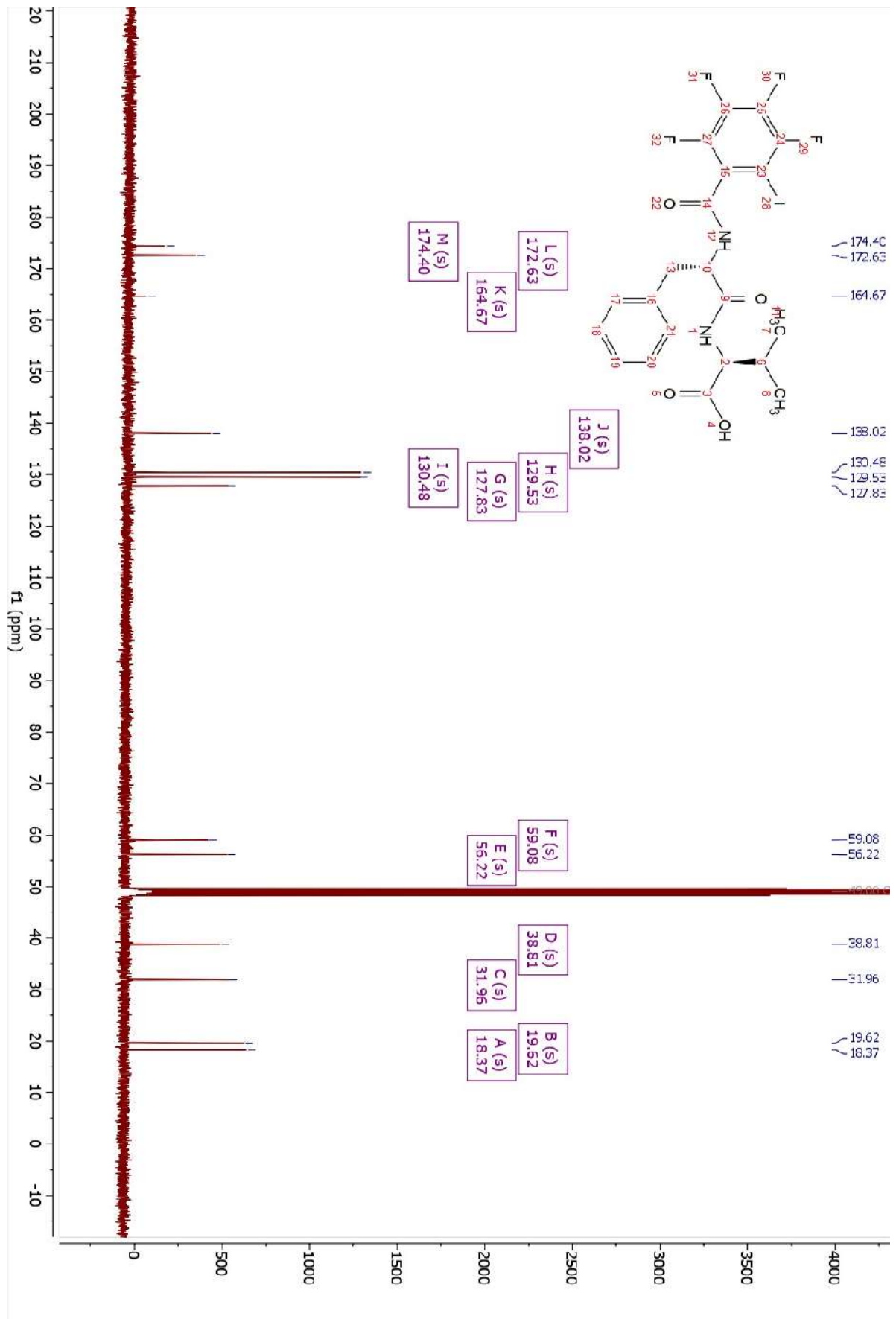
Lisa 2. Phe-Val ¹H TMR spekter



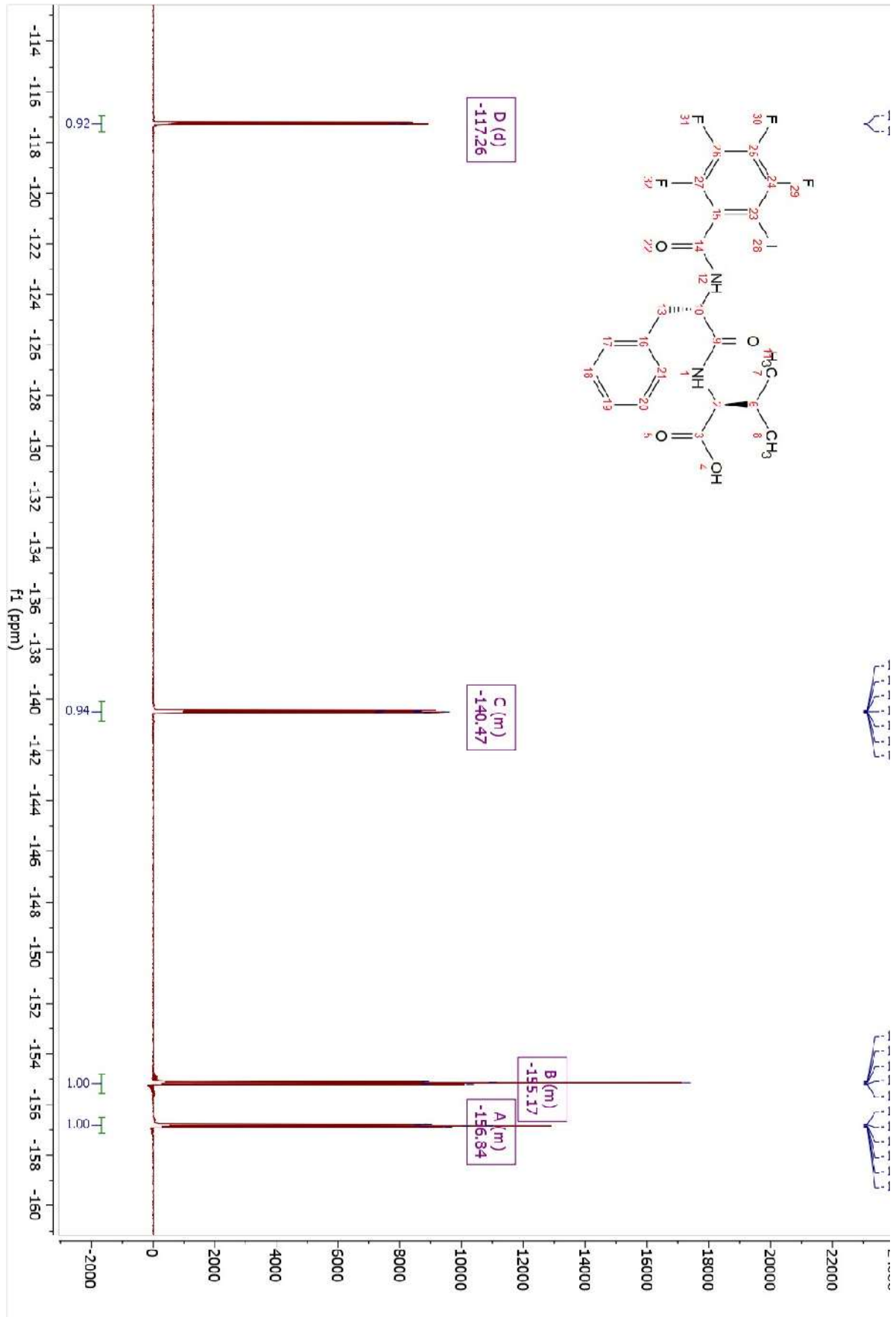
Lisa 3. XB-Phe-Val ¹H TMR spekter



Lisa 4. XB-Phe-Val ¹³C TMR spekter



Lisa 5. XB-Phe-Val ¹⁹F TMR spekter



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina **Allan Raudsepp**

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose **Modifitseeritud dipeptiidi süntees organokatalüüsis,**

mille juhendaja on **Harry Martõnov,**

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

30.05.2023

¹ Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.